第29卷 第11期
2015年11月
材料研究学报
CHINESE JOURNAL OF MATERIALS RESEARCH
Vol. 29 No. 11
November 2015

掺镁羟基磷灰石涂层在碳/碳复合材料表面的制备*

倪昕晔[1,2,3] 李爱军[1] 白瑞成[1] 熊信柏[3] 周 栋[2]

1. 上海大学材料科学与工程学院 上海 200444
2. 南京医科大学附属常州第二人民医院 常州 213003
3. 深圳大学材料学院 深圳 518060

摘 要 用电磁感应法在碳/碳复合材料表面制备与人骨镁含量相当的羟基磷灰石涂层, 镁占涂层的重量百分含量分别为0、0.28%、0.32%、0.49%。用SEM、EDS、XRD、FT-IR等手段对涂层进行了评价, 结果表明: 镁离子能进入羟基磷灰石晶格内部, 不同镁含量涂层的物相有微小差异。在人骨镁含量的范围内, 涂层的镁含量越高体外大鼠成骨细胞(MC3T3-E1)的粘附、增殖以及分化能力越强。

关键词 复合材料, 碳/碳复合材料, 镁, 羟基磷灰石

分类号 TB332 文章编号 1005-3093(2015)11-0853-07

Preparation of Magnesium Doped Hydroxyapatite Coating on Carbon/Carbon Composites

NI Xinye[1,2,3] LI Aijun[1] BAI Ruicheng[1] XIONG Xinbo[3] ZHOU Dong[2**]

1. School of Materials Science and Engineering, Shanghai University, Shanghai 200444, China
2. Second People's Hospital of Changzhou, Nanjing Medical University, Changzhou 213003, China
3. College of Materials Science and Engineering, Shenzhen University, Shenzhen 518060, China

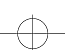
*Supported by Postdoctoral Science Foundation of China No. 2014M560323, the municipal social development project of the Changzhou City No. CJ20130019 and Natural Science Foundation of Jiangsu Province No. BK20151181.
Manuscript received January 14, 2015; in revised form March 25, 2015.
**To whom correspondence should be addressed, Tel: (0519)88118730, E-mail: nxy2000@aliyun.com

ABSTRACT Mg doped hydroxyapatite coatings with 0, 0.28%, 0.32%, 0.49% Mg respectively, as artificial human bones were prepared on carbon / carbon composites by means of electromagnetic induction method. Then they were characterized by SEM, EDS, X-ray diffraction and Fourier transform-infrared spectroscopy etc. The results show that Mg ions entered the hydroxyapatite lattice and these coatings have only a little difference in constituents. Within the range Mg content of human bone, Mg ions can enhance the adhesion, multiplication, and differentiation of external osteoblasts.
KEY WORDS composites, carbon/carbon composites, magnesium, hydroxyapatite

碳是构成人体的重要元素[1]。碳/碳复合材料具有高强度、高韧性、耐腐蚀、耐高温以及弹性模量与人骨相当等优点[2]。医用碳/碳复合材料是一种以碳纤维增强碳基体的新型生物医用复合材料, 可用于制造有良好应用前景的人工关节和骨假体[3]。未经处理的碳/碳复合材料表面是疏水性的, 属于生物惰性材料[4], 与骨组织表面仅仅是机械结合, 没有传导或诱导骨组织再生功能。同时, 其界面形成的周期长, 不能与人体产生化学键结合[5], 植入固定的周期也比较长, 影响碳/碳复合材料的应用[6]。同时, 碳/碳复合材料的颗粒易脱落[4], 因此需要对其进行表面处理[7]。

羟基磷灰石(hydroxyapatite, HA, 其化学式为$Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$)存在于动物的骨组织和牙齿中, 是一种生物活性材料。羟基磷灰石与骨有比较强的结合强度, 但是强度和韧性的不足使其不能单独作为骨材料使用。将碳/碳复合材料与羟基磷灰石的优

* 中国博士后基金2014M560323, 常州市社会发展项目CJ20130019和江苏省自然科学基金BK20151181资助。
2015年1月14日收到初稿; 2015年3月22日收到修改稿。
本文联系人: 周 栋



点结合起来可满足人体对骨替换材料的要求, 即以碳/碳复合材料为基体以HA为表面涂层[8, 9]。

纯HA在生理环境中易溶解产生不稳定性, 导致植入的失败[10], 而且纯HA的生物活性不如真正的骨矿物[11]。自然骨除了含有磷灰石, 还含有Mg^{2+}(镁离子)、Na^{+}(钠离子)、F^{-}(氟离子)等成份。其中Mg2+浓度直接影响人体骨质的钙化过程, 从钙化的开始到完成, Mg离子的浓度由高变低。Mg在自然骨中的质量百分含量为0.26%-0.55%, 在成年人体内大约含Mg1000 mmol(～24g)。大约60%的Mg存在于骨骼, 39%在细胞内, 只有1%在细胞的外环境[12]。Jasminka等[13]发现Mg可以调控骨质的生长和重塑, 其机理是Mg参与了骨矿表面反应。Mg参与正常细胞的繁殖, 刺激DNA和蛋白质的合成[14]。Yamasaki等在分子生物水平证明, Mg离子进入磷灰石晶体有助于加速成骨细胞粘附于和促进骨形成[15]。含Mg 2 mol%的Mg-HA(镁-羟基磷灰石)比纯HA能显著提高成骨细胞的贴附[16]。Serre等研究证明, 添加20%的Mg会降低磷灰石材料的骨传导性, 过多掺杂功能性元素反而降低材料的生物功能性[17]。由此可见, 掺Mg浓度合理的HA涂层是极有临床意义的一类改性材料, Mg与HA复合可克服传统生物陶瓷缺乏骨诱导能力的缺陷[18]。

目前的研究致力于掺Mg HA的制备[19-21]和在金属表面制备掺Mg的HA涂层。在金属表面制备掺Mg的HA涂层, 常用的方法有溶胶凝胶法、电化学法、等离子喷涂法等[22, 23, 9]。但是, 这些方法都不能解决纯HA涂层与碳/碳复合材料的结合强度较弱的问题[9, 24, 25]。同时, Mg离子渗入引起晶格扭曲, 使涂层的制备比纯HA涂层更难。本文作者用电磁感应法(15KHz)在碳/碳复合材料表面制备了三斜磷钙石、HA涂层, 划痕实验的临界载荷达到18 N[26], 满足临床要求。本文用电磁感应法在碳/碳复合材料表面制备与人骨镁含量相当的羟基磷灰石涂层。

1 实验方法

1.1 碳/碳复合材料的制备

试验用碳/碳复合材料为2.5维PAN基碳/碳复合材料, 弯曲强度为182.3 MPa, 弯曲模量为90.4 GPa, 弹性模量为35.0 Gpa, 制成直径1.2 cm、高度0.6 cm的圆柱体。为了增加涂层与碳/碳复合材料基体的结合力, 把碳/碳复合材料放入装有40 ml的2 mol浓度双氧水的高压釜中[26], 加热温度为150℃, 时间为2 h。

调整电磁感应加热工作频率为15 KHz。把$Ca(NO_3)_2$、$Mg(NO_3)_2$、$NH_4H_2PO_4$混合在蒸馏水中, Ca、P离子的浓度分别为0.080、0.048 mol/L, Mg离子浓度分别为0、0.04、0.08、0.16 mol/L, 相应方法记作Mg0M、Mg0.04M、Mg0.08M、Mg0.16M, 并调节pH值为4.5。

沉积实验在室温(20℃)下进行, 电流为650 A, 沉积时间为2 h。沉积实验完成后, 用蒸馏水冲洗样品, 得到掺Mg磷酸钙涂层。然后将样品浸入含有20%氨水的高压釜中, 加热时间为8 h, 温度为130℃, 得到掺Mg的HA涂层。再用去离子水对样品涂层进行浸泡、冲洗。最后用180℃的高温对涂层进行加热0.5 h, 以去除涂层中的水。

1.2 材料的表征

用X射线衍射(XRD)、SEM以及红外光谱(FT-IR)表征HA涂层, 用D8型X射线衍射仪进行XRD测试, 衍射仪的测试条件为管电压40 kV, 管电流40 mA, 步长0. 01, 扫描范围10°-90°。用SUPRA55型扫描电镜进行SEM、EDS测试, 加速电压为15 kV。用NEXU670型傅里叶变换红外/拉曼光谱仪进行FT-IR表征。

1.3 大鼠成骨细胞(MC3T3-E1)黏附与增值

将涂层样品放入24孔板中, 每孔加入含有2×10^{4}个/ml的大鼠颅骨成骨细胞(MC3T3-E1)的培养基1 ml, 培养基为RPMI1640和DMEM液, DMEM是含有10%胎牛血清、100 μg/mL链霉素和100 units/mL青霉素的细胞培养液, 置于37℃、5% CO^{2}的培养箱中, 让细胞自然沉落在掺Mg的HA涂层和纯的HA涂层表面, 5 h后吸取培养基, 将PBS加入每孔中, 并清洗样品涂层表面, 再把表面粘附有成骨细胞的碳/碳复合材料移到新的24孔细胞培养板中, 加培养基继续培养。具体实验内容有: (1)经过24 h后用PBS清洗材料表面, 用2.5%的戊二醛固定2 h, 再依次用浓度为30%、50%、70%、90%、95%的乙醇脱水20 min, 再用醋酸异戊酯兑换乙醇。用扫描电镜观察大鼠成骨细胞黏附特性。(2)2 d后进行荧光显微镜观察增值效应, 先使用PBS清洗材料表面, 用体积分数为10%的甲醛室温固定15 min, 再用5 ug/ml的碘化丙啶(PI, SIGMA公司)进行荧光染色15 min, 用抗荧光淬灭液封片, 最后用OLYMLUSIX71型倒置荧光显微镜进行观察并拍摄照片。(3)分3个时间段进行细胞增殖实验观察, 依次为2、4、6 d, 以便比较。每个试验材料每个时间段有5块碳/碳复合材料样品, 用胰酶将细胞从材料表面冲洗下来, 并在PBS中重悬, 采用九宫格细胞计数, 测量每小格中的细胞

数, 再换算成每块材料表面总的细胞数, 取其平均值, 使用SPSS 11.0软件多组均数比较的方差分析各组细胞数之间的差异。

2 结果和讨论

2.1 涂层的形貌(SEM和EDS)

由图1a可见, 纯HA涂层(Mg0M)由长约500 nm、直径约为50 nm的棒状晶体构成, 十余根棒构成一束, 棒状晶体之间有明显的空隙存在; 由图1b可见, Mg 0.04 M时涂层由长约350 nm、直径约为50 nm的棒状晶体构成, 5−10根棒构成一束; 由图1c可见, Mg 0.08 M时涂层由长约400 nm的棒状晶体束状构成, 棒状晶体之间有约为150 nm-400 nm的空隙, 棒状晶体构成的束状结构继续增加, 呈“头尖根粗”状, 棒状晶体之间空隙渐渐缩小; 由图1d可见, 涂层由棒状晶体组成的致密结构形成, 棒状晶体呈圆柱体状。有研究者认为, 一定尺寸的微孔存在有利于细胞的黏附和生物代谢的吸收[27]。

对Mg0.02M、Mg0.04M、Mg0.08M的EDS图(图2)分析结果表明, Mg占涂层的质量分数分别为0.28%、0.32%、0.49%, 与人骨的Mg含量相当。Mg0M的涂层为纯HA涂层, 即Mg占涂层的重量百分含量为0。

2.2 XRD分析结果

图3给出了X射线衍射(XRD)检测到的纯HA和掺Mg的HA的数据, 表明掺Mg的HA由小尺寸晶粒和Mg离子合成(图2)。掺Mg后28.032 (102)和28.841(210) 处的主XRD峰相互靠拢, Mg0.08M和Mg0M相比间距缩小了0.14°, 32.117(112) 和(300) 32.814处的主XRD峰逐渐靠拢, Mg0.08M和Mg0M相比间距缩小了0.12°。其原因是, Mg^{2+}半径为0.078nm的Mg^{2+}取代半径为0.106nm的Ca^{2+}, 使晶面间距变小。

2.3 红外分析结果(FTIR)

对掺Mg的HA涂层的红外分析结果, 在图4b、c、d中给出。可以看出, 磷酸根的伸缩振动吸收峰在1091 cm^{-1}、1034 cm^{-1}、965 cm^{-1}处, 弯曲振动吸收峰在603 cm^{-1}、566 cm^{-1}、481 cm^{-1}处。1654 cm^{-1}和3447 cm^{-1}为羟基的吸收峰[28, 29], 而在638 cm^{-1}为HA的特征吸收峰, 3582 cm^{-1}HA的特征吸收峰可能被羟基吸收峰掩盖[30]。这些结果说明, 与纯HA涂层相比(图4a)引入Mg离子后掺Mg涂层的成份没有发生根本的改变。

2.4 黏附特性

24 h后MC3T3-E1细胞在不同涂层表面的形貌, 如图5所示。由图5可见, Mg0M涂层表面细胞呈球形, 细胞不能很好的贴附在涂层表面, Mg0.04M涂层表面细胞稍展开, Mg0.08M涂层表面细胞与材料粘附紧密, Mg0.16M涂层表面细胞充分舒展开, 伸出伪足附着在涂层表面。

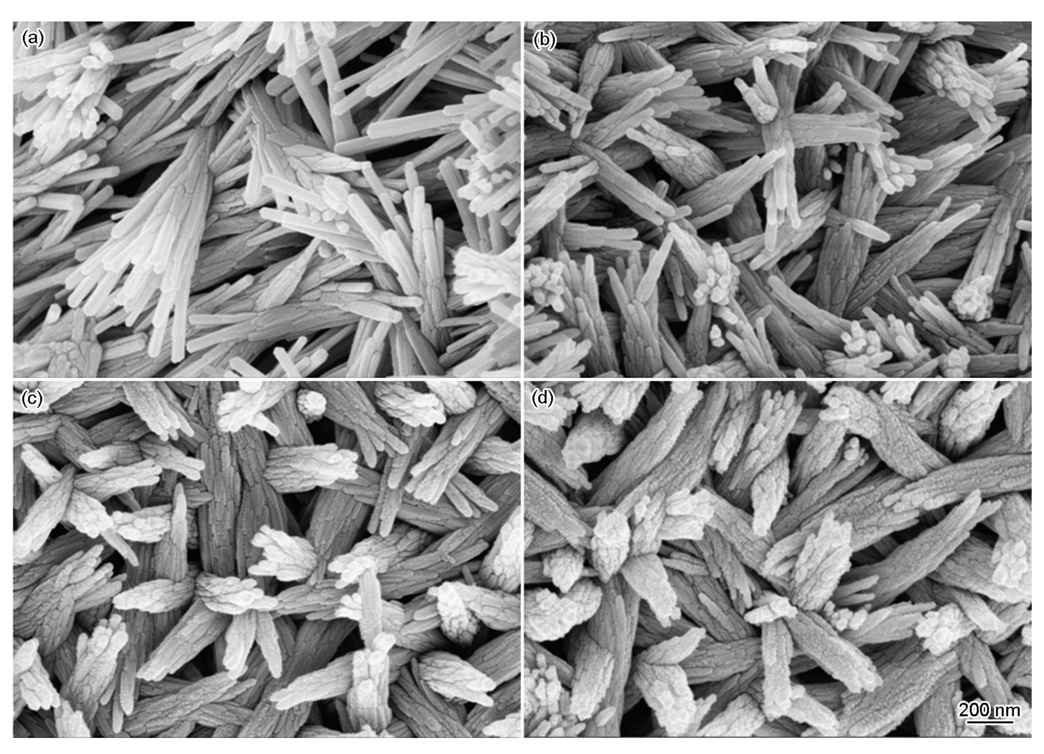


图1 不同含镁量涂层SEM照片的对比

Fig.1 SEM comparison of the coatings of different magnesium content (a) Mg0M, (b) Mg0.04M, (c) Mg0.08M, (d) Mg0.16M

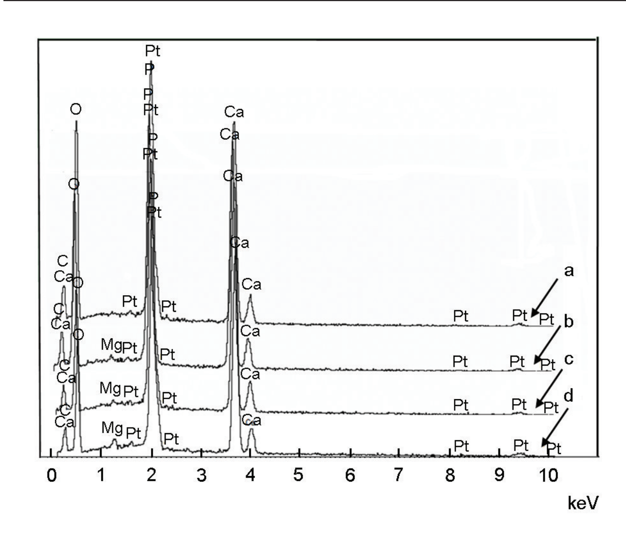


图2 不同镁含量涂层的EDS对比

Fig.2 EDS comparison of the coatings of different magnesium content (a) Mg0M, (b) Mg0.04M, (c) Mg0.08M, (d) Mg0.16M

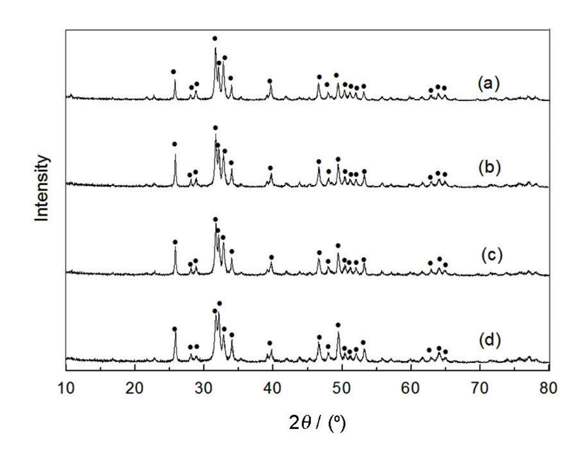


图3 不同含镁量涂层XRD衍射图谱的对比

Fig.3 XRD comparison of the coatings of different magnesium content (a) Mg0M, (b) Mg0.04M, (c) Mg0.08M, (d) Mg0.16M

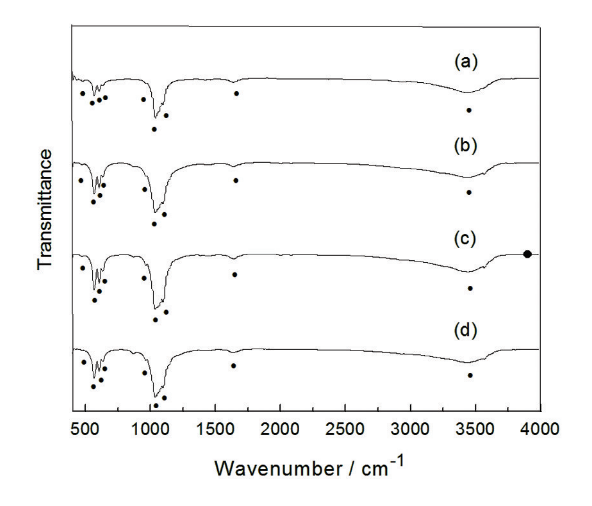


图4 不同含镁量涂层FTIR的对比

Fig.4 FTIR comparison of the coatings of different magnesium content (a) Mg0M, (b) Mg0.04M, (c) Mg0.08M, (d) Mg0.16M

细胞的黏附状态, 可能与外界环境有关。在HA表面掺杂Mg离子使细胞外部环境更接近于真实环境, 有利于细胞的黏附。生长细胞的黏附状态, 间接反映成骨细胞在植入物材料表面的活力。细胞的伸

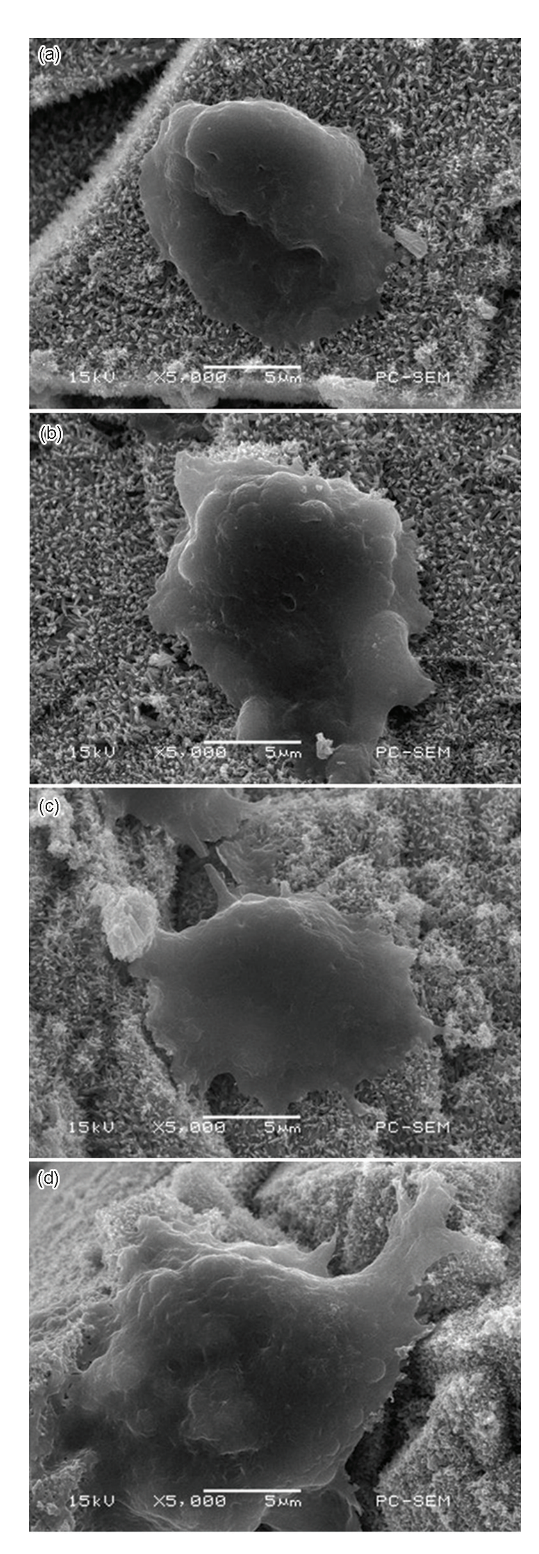
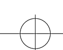


图5 不同含镁量涂层表面的MC3T3-E1细胞粘附的对比

Fig.5 Osteoblast (MC3T3-E1) morphologies on the coatings of different magnesium content (a) Mg0M, (b) Mg0.04M, (c) Mg0.08M, (d) Mg0.16M



展而使细胞铺展开, 使其表面积随着扩大, 增加了与培养液之间的接触面积, 有利于营养的吸收, 促进了细胞的生长和增殖。

2.5 细胞的增殖

图6给出了所培养的MC3T3-E1细胞分别接种2、4、6 d后的增值曲线图。从图6中可以看出, 含Mg的HA涂层细胞增殖能力明显高于用感应加热法制备的涂层。经SPSS11.0软件多组均数比较的方差分析, Mg0.04M、Mg0.08M、Mg0.16M涂层比Mg0M涂层相比, 2 d的P值分别为4.9×10^{-5}、2.0×10^{-6}、2.2×10^{-6}, 4 d的P值分别为1.2×10^{-5}、1.0×10^{-6}、8.1×10^{-7}, 6 d的P值分别为2.0×10^{-4}、6.6×10^{-5}、7.9×10^{-6}, 均小于5.0×10^{-2}。增值差异具有统计学意义。

2.6 在荧光显微镜下观察细胞增殖

2 d后进行倒置荧光显微镜观察, 发现在纯HA涂层(Mg0M)表面MC3T3-E1细胞数量明显小于Mg0.04M、Mg0.08M、Mg0.16M涂层表面细胞, 其中以Mg0.08M和Mg0.16M涂层表面细胞数量多。荧光显微镜观察增殖结果与细胞计数结果(图7)一致。

根据感应加热原理, 当电源通过线圈输出交变电流时, 处于其中的碳/碳复合材料基体会产生感应电动势, 引起导体内部产生涡流。在涡流焦耳热的作用下导体发热, 导体温度的上升使周围液体的温度随之上升。其化学反应方程式为

$$(10-a)Ca^{2+}+aMg^{2+}+6PO_4^{3+}+2OH^{1-}\rightarrow Ca_{10-a}Mg(PO_4)_6(OH)_2$$

Mg^{2+}替换到Ca^{2+}的位置使HA的晶体结构发生扭曲和降低结晶度, 因此Mg离子替代Ca钙离子是有限的。Mg离子替换的是Ca(I)和Ca(II)位, 且优先替换沿着单一OH通道的Ca(II)位[31]。Bigi等甚至认为, Mg只替换与氢氧根相邻的Ca原子, 因为它与氧之间的距离更近[32]。已有学者证实, 掺低浓度Mg(<5%)的HA涂层能提高生物效应的[33, 34]。与HA涂层相比, 在掺Mg的HA涂层表面成骨细胞增值快, 可能与掺Mg的HA涂层和真实骨都含有一定量的Mg离子有关。

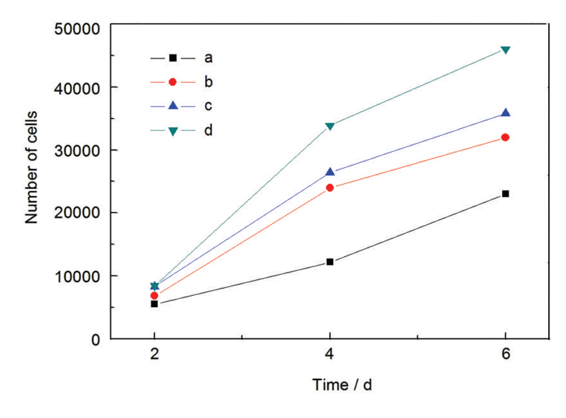


图6 不同含镁量涂层表面的MC3T3-E1细胞增值的对比

Fig.6 Cell quantities of coatings of different magnesium content at different times (a) Mg0M, (b) Mg0.04M, (c) Mg0.08M, (d) Mg0.16M

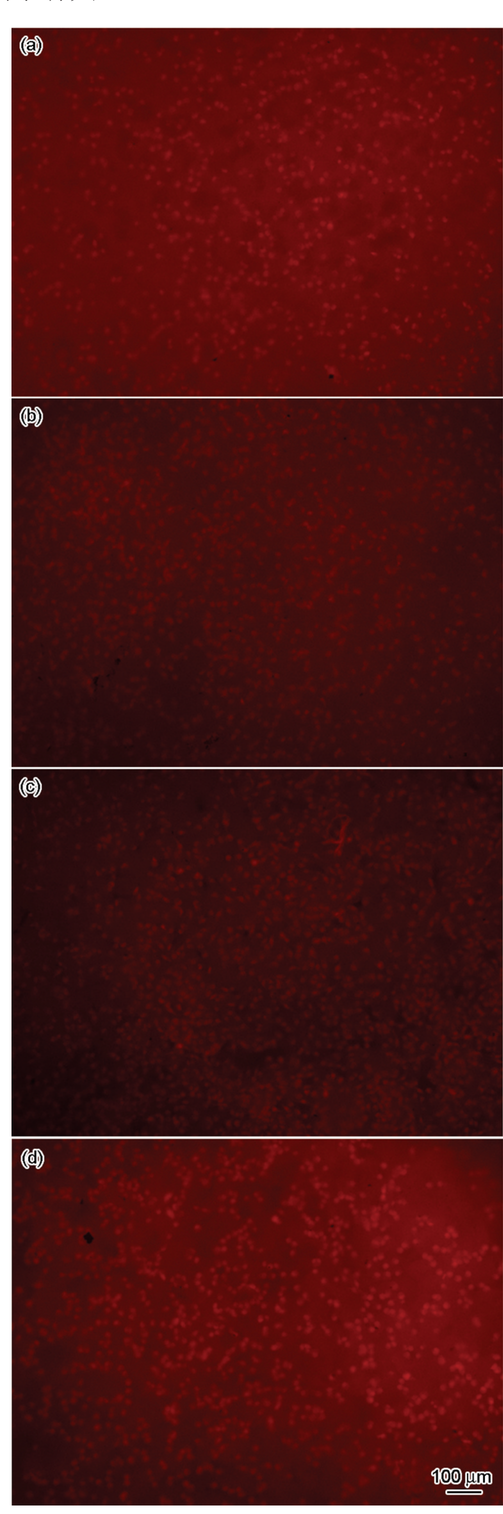


图7 不同含镁量涂层表面的MC3T3-E1细胞荧光电镜照片对比(2d)

Fig.7 Fluorescence microscopy map of coatings of different magnesium content (a) Mg0M, (b) Mg0.04M, (c) Mg0.08M, (d) Mg0.16M

3 结　论

用电磁感应法制备的掺镁羟基磷灰石涂层，其镁含量与人骨相当。掺镁羟基磷灰石涂层的物相与纯羟基磷灰石涂层有微小的差异。在人骨的镁含量范围内，涂层中镁含量越高体外成骨细胞的粘附、增殖、分化能力越强。

参 考 文 献

1 Gott VL, Whiffen JD, Dutten RC, Heparin bonding colloidal graphite surfaces, Science, **142**(3597), 1279(1963)

2 NI Xinye, TANG Xiaobin, GENG Changran, CHEN Da, The prospect of carbon fiber implants in radiotherapy, J Appl Clin Med Phys, **13**(4), 152(2012)

3 Meier R, Schulz M, Krimmer H, Stütz N, Lanz U, Proximal interphalangeal joint replacement with pyrolytic carbon prostheses, Oper Orthopade Traum, **19**(1), 1(2007)

4 Shimmin A, Beaulé PE, Campbell P, Metal-on-metal hip resurfacing arthroplasty, J Bone Joint Surg Am, **90**(3), 637(2008)

5 Adams D, Williams DF, The response of bone to carbon-carbon composites, Biomaterials, **5**(2), 59(1984)

6 Gwyn M J, Francisco X C, Biomedical applications of carbon fiber reinforced carbon in implanted prostheses, Carbon, **15**(1), 33(1977)

7 NI Xinye, LI Aijun, XIONG Xinbo, BAI RuiCheng, ZHOU Dong, Effect of electromagnetic induction deposition's heating time of magnesium-hydroxyapatite coating on carbon / carbon composites, Journal of Biobased Materials and Bioenergy, **8**(6), 603(2014)

8 NI Xinye, CHU Cencen, XIONG Xinbo, LI Aijun, BAI Ruicheng, Preparation of hydroxyapatite coating using chemical liquid vaporization deposition on carbon/carbon composites, RSC Advances, **4**(77), 41129(2014)

9 NI Xinye, TANG Xiaobin, LIN Tao, ZHAO Quandi, GENG Changran, CAI Leiming, GU Weidong, MIAO YunLiang, CHEN Da, Properties of plasma-spray coated hydroxyapatite on carbon/carbon composites pretreated by an argon plasma, New Carbon Material, **28**(3), 215(2013)
(倪昕晔, 汤晓斌, 赵全娣, 耿长冉, 蔡雷铭, 顾卫东, 缪云良, 陈达, 离子预处理的碳/碳复合材料等离子喷涂制备羟基磷灰石涂层, 新型炭材料, **28**(3), 215(2013))

10 Zhang S, Xianting Z, Yongsheng W, Kui C, Wenjian W. Adhesion strength of sol-gel derived fl uoridated hydroxyapatite coatings, Surf Coat Technol, **200**(22-23), 6350(2006)

11 Kalita SJ, Bhatt HA, Nanocrystalline hydroxyapatite doped with magnesium and zinc: Synthesis and characterization, Mater. Sci. Eng. C, **27**(4), 837(2007)

12 Wester P, Magnesium, Am.J.Clinical Nutrition, **45**, 1305(1987)

13 Ilich JZ, Kerstetter JE, Nutrition in bone health revisited: a story beyond calcium, J Am Coll Nutr, **19**(6), 715(2000)

14 Wolf FI, Cittadini A.Magnesium in cell proliferation and differentiation, Front Biosci, **4**, 607(1999)

15 Yamasaki Y, Yoshida Y, Okazaki M, Shimazu A, Kubo T, Akagawa Y, Uchida T, Action of FGMgCO3Ap-collagen composite in promoting bone formation, Biomaterials, **24**(27), 4913(2003)

16 Webster TJ, Ergun C, Doremus RH, Bizios R, Hydroxylapatite with substituted magnesium, zinc, cadmium, and yttrium. II. Mechanisms of osteoblast adhesion, J Biomed Mater Res, **59**(2), 2002

17 Serre CM, Papillard M, Chavassieux P, Voegel JC, Boivin G, Influence of magnesium substitution on a collagen-apatite biomaterial on the production of a calcifying matrix by human osteoblasts, J Biomed Mater Res, **42**(4), 626(1998)

18 Kannan S, Venmra JM, Fetreira JMF, Aqueous precipitation method for the formation of Mg-stabilized β-tricalcium phosphate: An X-ray diffraction study, Ceram Int, **33**(4), 637(2007)

19 Pijocha D, Zima A, Paszkiewicz Z, Ślósarczyk A, Physicochemical properties of the novel biphasic hydroxyapatite-magnesium phosphate biomaterial, Acta Bioeng Biomech, **15**(3), 53(2013)

20 Zyman Z, Tkachenko M, Epple M, Polyakov M, Naboka M, Magnesium-substituted hydroxyapatite ceramics, Materialwissenschaft und Werkstofftechnik, **37**(6), 474(2006)

21 Ziani S, Meski S, Khireddine H, Characterization of Magnesium-Doped Hydroxyapatite Prepared by Sol-Gel Process, International Journal of Applied Ceramic Technology, **11**(1), 83(2014)

22 CAI Yanli, ZHANG Sam, ZENG Xianting, WANG Yongsheng, QIAN Min, WENG Wenjian, Improvement of bioactivity with magnesium and fluorine ions incorporated hydroxyapatite coatings via sol-gel deposition on Ti6Al4V alloys, Thin Solid Films, **517**(17), 5347(2009)

23 JIAO MingJie, WANG XiaoXiang, Electrolytic deposition of magnesium-substituted hydroxyapatite crystals on titanium substrate[J]. Materials Letters, **63**(27), 2286(2009)

24 SUI Jinling, LI Musen, LU Yupeng, YIN Longwei, SONG Yunjing, Plasma-Sprayed Hydroxyapatite Coatings on Carbon/Carbon Composites, Surface and Coatings Technology, **176**(2), 188(2004)

25 WANG Chuang, LI Kezhi, ZHAI Yanqiang, LI Hejun, Wang Junlong, JIAO Gengsheng, Study of fluorh-hydroxyapatite coatings on carbon/ carbon composites, Surface and Coatings Technology, **203**(13), 1771(2009)

26 XIONG Xinbo, NI Xinye, ZENG Xierong, JI Zhaozou, A study of monetite precipitation on HT-C/C composites by induction heating method at different substrate temperatures, Surface and Coatings Technology, **256**(5), 6(2013)

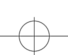
27 Hench LL, Sol-gel materials for bioceramic applications, Curr Opin Solid St M, **2**(5), 604(1997)

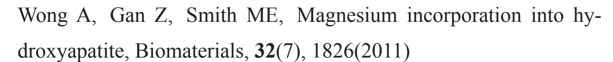
28 Anee T K, Ashok M, Palanichamy M, Kalkura S N, A novel technique to synthesize hydroxyapatite at low temperature, Materials Chemistry and Physics, **80**(3), 725(2003)

29 WANG Yingjun, CHEN Jingdi, WEI kun, ZHANG Shuhua, WANG Xidong, Surfactant-assisted synthesis of hydroxyapatite particles, Materials Letters, **60**(27), 3227(2006)

30 Ashok M, Sundaram N M, Kalkura S N, Crystallization of hydroxyapatite at physiological temperature, Materials Letters, **57**(13-14), 2066(2003)

31 Laurencin D, Almora-Barrios N, de Leeuw NH, Gervais C, Bonhomme C, Mauri F, Chrzanowski W, Knowles JC, Newport RJ,





Wong A, Gan Z, Smith ME, Magnesium incorporation into hydroxyapatite, Biomaterials, **32**(7), 1826(2011)

32 Bigi A, Falini G, Foresti E, Gazzano M, Ripamonti A, Roveri N, Magnesium influence on hydroxyapatite crystallization, Journal of Inorganic Biochemistry, **49**(1), 69(1993)

33 Gomes S, Renaudin G, Jallot E, Nedelec JM, Structural characterization and biological fluid interaction of Sol-Gel-derived Mg-substituted biphasic calcium phosphate ceramics, ACS Appl Mater Interfaces, **1**(2), 505(2009)

34 Landi E, Logroscino G, Proietti L, Tampieri A, Sandri M, Sprio S, Biomimetic Mg-substituted hydroxyapatite: from synthesis to in vivo behaviour, J Mater Sci Mater Med, **19**(1), 239(2008)

